

Warszawa 06.08.2025

Dr hab. n med. Tadeusz M Zielonka

Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Recenzja rozprawy na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Dagmara Borkowska-Tatar

Ewaluacja testu QuantiFeron TB-Gold Plus w diagnozowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i poszukiwanie nowych alternatywnych biomarkerów.

Ogólne wprowadzenie

Z uznaniem trzeba odnieść się do wyboru tematu tej rozprawy doktorskiej. Poprawiająca się sytuacja epidemiologiczna gruźlicy w Polsce zwiększa znaczenie przypadków utajonego zakażenia, które stanowią rezerwuuar prątków gruźlicy. Aby ograniczyć szerzenie się choroby potrzebna jest identyfikacja chorych z utajonym zakażeniem i zastosowanie w chemioprophylaktyki. Powszechna realizacja szczepień BCG w naszym kraju znacząco ograniczyła przydatność tradycyjnej próby tuberkulinowej w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy, gdyż często obserwuje się dodatnie wyniki poszczepienne niewynikające z zakażenia. Powoduje to jej nieprzydatność w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy i potrzebę stosowania innych metod, takich jak QuantiFERON-TB Gold Plus, który należy do nowej generacji testów wykrywających zwiększone uwalnianie interferonu γ przez

limfocyty stymulowane swoistymi antygenami prątka gruźlicy (IGRA). Wprowadzeniu tych testów towarzyszyły wielkie nadzieje, ale również wątpliwości na ile pomocne będą w diagnostyce aktywnego zachorowania na gruźlicę. Jak każda nowa metoda testy te wymagają przeprowadzenia badań określających ich walory i ograniczenia, co pozwala na zdefiniowanie ich przydatności w diagnostyce gruźlicy. Przedstawione w tej rozprawie doktorskiej wyniki pozwalają lepiej ocenić rolę IGRA w rozpoznawaniu utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Warto podkreślić niezwykle nowatorskie zestawienie wyników badań w kierunku LTBI z Krajowym Rejestrem zachorowań na Gruźlicę. Drugim elementem badania było porównanie wyników oznaczeń mierzonych immunoenzymatycznie z wynikami pomiarów uwalniania interferonu γ metodą chemiluminescencji. Umożliwiło to zdefiniowanie wartości diagnostycznej nowych, w pełni zautomatyzowanych pomiarów interferonu γ uwalnianego po swoistej stymulacji antygenowej. Najbardziej nowatorskie było jednak poszukiwanie nowych biomarkerów, które pozwoliłyby odróżnić aktywne zachorowanie na gruźlicę od postaci uśpionych. Jest to kluczowe badanie, niezwykle ważne dla poprawy kontroli zakażeń gruźliczych. Istnieje pilna potrzeba opracowania metod pozwalających na wczesne rozpoznanie aktywnej gruźlicy i odróżnienia jej od postaci utajonych. Uzyskane wyniki w tym zakresie są bardzo obiecujące i należy kontynuować prace wykazujące ich przydatność w tym zakresie. Trzeba zatem pochwalić wybór tematu i oryginalność przeprowadzonych badań mających praktyczne znaczenie w diagnostyce gruźlicy i kontroli zakażeń.

Omówienie formalne

Przedstawione do recenzji opracowanie ma tradycyjny charakter i typowy układ rozprawy na stopień doktora nauk medycznych. Starannie przygotowany maszynopis pracy liczący w sumie 176 stron, zawiera 34 tabele i 22 ryciny. Zestawienie wszystkich rycin i tabel znalazło się na końcu rozprawy, a na początku umieszczono spis 85 skrótów stosowanych w

jej dalszej części, co jest pomocne dla czytelników, nie zawsze zaznajomionych z tematem rozprawy. Silnym jej punktem jest bardzo bogate piśmiennictwo, które liczy 281 pozycji. Dodatkowo na końcu rozprawy, w Aneksie, umieszczono w 3 obszernych tabelach szczegółowe dane 712 pacjentów, u których wykonano test QuantiFERON-TB Gold Plus oraz mniejsze grupy pacjentów biorących udział w dwóch pozostałych fazach badania. Rozprawa podzielona została na rozdziały zgodnie z powszechnie przyjętymi zasadami, a na końcu opatrzona jest streszczeniem w języku polskim i angielskim. Należy podkreślić, że praca jest napisana bardzo poprawną polszczyzną, co ułatwia zrozumienie treści i śledzenie myśli doktorantki. Bardzo nieliczne są błędy edytorskie zestawione a Aneksie do tej recenzji.

Omówienie szczegółowe

Tytuł pracy

Tytuł pracy jest jasno sformułowany. Pewne wątpliwości budzi jedynie używanie bardzo rozpowszechnionych w Polsce słów obcego pochodzenia, zamiast polskich odpowiedników, czyli - *ewaluacja* zamiast *ocena*, *diagnozowanie* zamiast *rozpoznawanie*, *latentny* zamiast *uśpiony*. W tytule wkradł się też błąd edytorski nazwy badanego testu, gdyż powszechnie stosowanym zapisem zaproponowanym przez producenta jest QuantiFERON-TB Gold Plus. Niestety w tytule i w tekście rozprawy można natrafić na inne zapisy nazwy tego testu.

Spis treści

Na początku znajduje się bardzo przejrzyste przygotowany spis treści pozwalający na szybkie znalezienie poszukiwanego fragmentu rozprawy.

Skróty

Tekst dysertacji poprzedzony został zestawieniem 85 skrótów ułożonych w kolejności alfabetycznej. Zabrakło jednak kilku skrótów, które są stosowane w tekście rozprawy np. CD4+, CD8+, IU, LAM, LQS, MHC, RR/MDR, PIM, TIBCO, SDG. Część z nich została umieszczona pod innym hasłem np. raport SDG, kompleks MHC, ManLAM, co utrudnia ich znalezienie w porządku alfabetycznym. Niektóre skróty, takie jak ELFA, FIA, LFA, RT-qPCR znalazły się tylko w tabelach i nie zostały wyjaśnione w podpisach pod tabelami, co należało zrobić dla lepszego zrozumienia zawartości tabeli. Niekiedy skrót jest wyjaśniony tylko po angielsku bez polskiej wersji językowej np. BCG, BK, COVID-19, CFP-10, FIA, MDR-TB, NK, XMAP. W kilku miejscach zabrakło angielskiego odpowiednika, mimo że skrót pochodził z angielskiej wersji np. TDM. Należało konsekwentnie podawać wyjaśnienie skrótu po polsku i po angielsku.

Wstęp

We wstępie autorka wykazała się bardzo rozległą wiedzą dotyczącą gruźlicy. Jest on mistrzowsko skonstruowany, co świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki i profesjonalizmie promotora. Podzielony został bowiem na 6 części przechodzących płynnie od globalnego spojrzenia do coraz bardziej szczegółowego ujęcia tematu rozprawy. Innymi słowy: na początku przedstawiono problem z lotu ptaka, a na końcu spojrzenie pod mikroskopem na zagadnienie, które było przedmiotem badania. Niezwykle wyważone są proporcje poszczególnych elementów wstępu, ani za długie, ani zbyt powierzchowne. Ta konstrukcja wstępu pod względem podziału i proporcji może służyć za wzorcową. Całość opatrzona jest nowoczesnym i adekwatnym do omawianych spraw piśmiennictwem składającym się ze 152 pozycji, z ostatnich lat. Wstęp rozpoczyna zdefiniowanie gruźlicy, czym jest spowodowana, czym charakteryzuje się prątek i jak rozwija się zakażenie tą bakterią. Z drobnych uwag krytycznych dotyczących tej części można jedynie zaznaczyć, że nie wymieniono dróg szerzenia się

zakażenia z płuc do innych narządów, jak również pominięto wśród czynników ryzyka zachorowania na gruźlicę stale obecne we współczesnym świecie czynniki, takie jak głód, wojna czy bezdomność. Niemniej autorka bardzo dobrze zdefiniowała chorobę i jej rozwój.

Następnie doktorantka przedstawiła pokrótce aktualną sytuację epidemiologiczną gruźlicy poczynając od światowej, poprzez europejską, na polskiej skończywszy. Bardzo rzetelnie przedstawione zostały aktualne problemy, wskazując na ich regionalne na każdym poziomie zróżnicowanie. Na rycinie 2 i 3 zaprezentowano odpowiednio zapadalność na gruźlicę na świecie wg WHO i w Europie wg ECDC, które zostały zmodyfikowane, ale znając oryginały trudno doszukać się w tych rycinach na czym polegała ta modyfikacja. Pisząc o zapadalności na świecie autorka nie dość precyzyjnie zdefiniowała niektóre dane. W tekście mowa jest o szacowanych 8.2 mln, a rzeczywistych 10.8 mln przypadków. Na podstawie zarejestrowanych imiennych zgłoszeń w krajach członkowskich Światowej Organizacji Zdrowia jest 8.2 mln nowych zachorowań, ale WHO szacuje, że tak naprawdę liczba przypadków jest wyższa i sięga 10.8 mln. Pisząc o 1.25 mln zgonów nie wskazano jakiego roku to dotyczy, jedynie cytacja wskazuje na rok 2023 publikacji raportu WHO, a zatem chodzi o 2022 lub 2021 rok. Ze względu na dużą zmienność danych obserwowaną w ostatnim okresie, związaną ze spadkiem zachorowań w pandemii COVID-19 i późniejszym wzrostem zachorowań, należy podawać z jakiego roku liczby pochodzą. Rycina 2, na którą autorka powołuje się w tekście nie jest adekwatna do opisu, gdyż obrazuje ona zapadalność na 100 tys. w poszczególnych krajach, podczas gdy w tekście mowa jest o liczbach chorych w różnych państwach, a zatem rycina nie odzwierciedla danych, o których mowa w tekście. Należało także wyjaśnić, że Europejski region WHO nie pokrywa się z geograficznym podziałem świata, stąd Kazachstan czy Uzbekistan znalazły się wśród krajów o najgorszej sytuacji epidemiologicznej w tym regionie, co wynika z historycznego traktowania całego Związku Radzieckiego jako kraju

europejskiego i pozostało tak do dziś, nawet jeśli są to już niezależne państwa azjatyckie. Niejasna konstrukcja zdania spowodowała, że nie wiadomo jakiej populacji dotyczy określenie *67 000 nowych zachorowań*. Jeśli były to przypadki RR/MDR-TB to przy 229 000 wszystkich zachorowań znaczyłoby to ponad ¼ wszystkich przypadków, co jak wiemy nie jest prawdą. Nie wiadomo czego dotyczy to zestawienie i trzeba to doprecyzować. Natomiast bardzo rzetelnie przedstawione zostały dane epidemiologiczne dotyczące gruźlicy w Polsce.

W kolejnej części bardzo starannie omówiono przebieg zakażenia prątkiem gruźlicy, skupiając się na szerzeniu zakażenia i patogenezie tej choroby. Trzeba podkreślić wyjątkowo starannie przygotowane i przejrzyste zaprezentowane ryciny obrazujące budowę ziarniniaka, a także schematy wydzielania mediatorów reakcji zapalnej w płucach w kolejnych fazach choroby. Wątpliwości budzi pominięcie przez ekspertów, na których powołuje się autorka, nosa i zatok przy pierwszym punkcie interakcji – tchawica i oskrzele. Przy prawidłowym oddychaniu przez nos pierwszą zaporą dla mikroorganizmów jest nos. Zastrzeżenie budzi cytacja 22 przy omawianiu surfaktantu, gdyż wskazany artykuł dotyczy skórnej gruźlicy, a zatem prawdopodobnie wkraść się pewien błąd w numeracji piśmiennictwa.

Następnie omówione zostały cytokiny biorące udział w zakażeniu prątkiem gruźlicy. Tym razem autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością podstaw immunologii. W podpisie ryciny 6 nie opisano czego dotyczy obraz po stronie prawej a czego po stronie lewej. Należało podpisać je oznakowaniem np. A i B, a w opisie ryciny zdefiniować czego dotyczą te obrazy. W tej części można było umieścić wstępne informacje zawarte w dyskusji, które dotyczyły badanych cytokin, tylko w ujęciu ogólnym, a nie dotyczącym omówienia uzyskanych wyników. Takie przesunięcie byłoby dobrym uzasadnieniem celu badawczego jakim były pomiary w surowicy krwi stężeń wybranych biomarkerów. Można było także w tej części omówić te czynniki uzasadniając dlaczego zostały wybrane do badania.

Kolejny element wstępu dotyczył uśpionego zakażenia prątkiem gruźlicy, w którym doktorantka wykazała się znajomością nowoczesnych koncepcji patogenezy gruźlicy. Pewne wątpliwość budzi teza Kendall'a, że utajona postać gruźlicy w każdym przypadku jest etapem poprzedzającym aktywną postać. W obu koncepcjach przedstawionych na rycinie 9 LTBI poprzedza aktywną postać choroby. Warto zastanowić się czy faza uśpienia procesu zawsze jest obecna. Czy jeśli dochodzi do ekspozycji na prątki chorych ze spadkiem odporności np. u zakażonych HIV, to LTBI poprzedza aktywną postać choroby? Oczywiście nie polemizuję tu ze stanowiskiem doktorantki, ale z opinią ekspertów, na których się powołuje. Problem sprowadza się do tłumaczenia określenia *latent TB*. Czy jest to utajona czy uśpiona gruźlica?

W trakcie pracy nad tym rozdziałem zmieniony został układ poszczególnych akapitów, co spowodowało załamanie cytacji w kolejności ukazywania się w tekście. W wyniku czego po cytacji 69, kolejne cytacje oznaczone są numerem 75, 76, 77, natomiast cytacje 70-74 znajdują się w dalszej części tekstu. Następnie cytacje 82 i 83 są przed cytacjami 80 i 81, które umieszczono po nich. Jest to błąd redakcyjny, gdyż wszystkie te cytacje są adekwatne do tematu, jedynie nie są pokazane w kolejności cytowania.

Na koniec bardzo profesjonalnie porównano metody diagnostyczne utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Przy omawianiu próby tuberkulinowej wkradł się jednak błąd wynikający z połączenia dwóch problemów w jednym zdaniu. Fałszywie dodatnie wyniki ograniczają swoistość nie czułość, ale obniżona odporność, o której jest mowa w tym samym zdaniu, powoduje fałszywie ujemne wyniki, co ogranicza czułość.

We wstępie autorka wykazała się nowoczesną wiedzą w wielu dziedzinach od epidemiologii gruźlicy, biologii prątka, immunologii, patogenezy, diagnostyki i leczenia różnych postaci gruźlicy, a także kontroli zakażeń.

1. Cel pracy

Po wstępie stanowiącym doskonałe tło do prezentacji badań precyzyjnie zdefiniowano założenia pracy. Cel badania jest jednak nieco inny niż tytuł rozprawy, który wskazywał przede wszystkim na ocenę określonego testu i poszukiwanie nowych biomarkerów pozwalających na odróżnienie utajonej gruźlicy od aktywnego zachorowania. Nie jest to dobre rozwiązanie, gdy cel pracy różni się od jej tytułu. Być może tytuł rozprawy był wcześniej zdefiniowany i nie został odpowiednio zmodyfikowany przy wyraźnym rozszerzeniu zakresu przeprowadzonych badań.

Material i metody

Autorka zdecydowała się na oddzielne omówienie badanego materiału i metod, co jednak spowodowało miejscami pewne nakładanie się problemów i nieodpowiednią lokalizację niektórych fragmentów rozprawy. Podrozdział 3.2 zatytułowany *Pobieranie krwi i przygotowanie próbek osocza do testów IGRA* oraz podrozdział 3.3 pod tytułem *Przygotowanie próbek osocza do oznaczenia stężeń 20 białek za pomocą systemu Bio-Plex 200* należy zaliczyć do metodyki. Oczywiście można to interpretować, że materiałem były próbki krwi, ale mimo wszystko zawartość tych podrozdziałów jest *stricte* metodyczna. Dyskusyjne jest określenie tytułu rozdziału *Materialy*, w którym opisano materiał badawczy. Nasuwa się pytanie czy materiałem były próbki krwi czy osoby badane w kierunku utajonej gruźlicy, od których te próbki pobrano. Materiał chorych, o którym jest mowa w tym rozdziale został szczegółowo scharakteryzowany w Tabelach stanowiących Aneks. Z tego względu należało w rozdziale poświęconym materiałowi odesłać czytelnika do Aneksu zawierającego szczegółowe dane charakteryzujące pacjentów biorących udział w tym badaniu.

Metodyka opisana jest bardzo starannie, precyzyjnie i zgodnie z zaleceniami producentów wykonywanych testów. Widoczne jest olbrzymie osobiste doświadczenie i

samodzielne wykonywanie ich testów przez doktorantkę, która doskonale wie o czym pisze, bo wielokrotnie wykonywała opisywane procedury.

Niejasne jest tylko dlaczego w tekście dodawano do każdej próbówki 250 μL rozcieńczalnika powołując się na rycinę 12, na której wskazano dodanie 150 μL rozcieńczalnika do każdej próbówki? Próbowałem sprawdzić jak powinno być to zapisane we wskazanym źródle [154], ale było to odesłanie do strony głównej producenta testu, a nie bezpośrednio do instrukcji obsługi konkretnego produktu, o którym była mowa. Prawdopodobnie można było to wyszukać w jakiś podzbiorach, ale uzasadnione byłoby wskazanie bezpośrednio strony, na której można było zapoznać się z tą konkretną instrukcją i sprawdzić zalecane ilości rozcieńczalnika.

Na duże uznanie zasługuje rozdział poświęcony metodom statystycznym. Bardzo rzadko spotka się tak obszerne zaprezentowanie strategii i metod statystycznych wykorzystanych w tym opracowaniu z powołaniem się na bogatą literaturę w tym zakresie, co również jest ewenementem w tego rodzaju opracowaniach. Pomimo to niektóre zagadnienia metodyki statystycznej niepotrzebnie znalazły się w rozdziale *Wyniki* i powinny być przeniesione do rozdziału *Metody statystyczne*. Niemniej ta część rozprawy jest bardzo silnym elementem wskazującym na bardzo solidne opracowanie uzyskanych wyników.

Pewnym zaskoczeniem jest jednak brak w tej części określenia statusu etycznego trzech odmiennych badań wchodzących w skład rozprawy. Przeprowadzając badania naukowe z udziałem chorych i materiałów od nich pobranych należy przedstawić projekt Komisji Biotycznej i uzyskać jej akceptację. Prospektywne badania z udziałem chorych wymagają uzyskania od pacjentów świadomej zgody na pobieranie krwi dla celów badawczych. Niewątpliwie większość oceny miała charakter retrospektywny i przeprowadzono analizę wyników badań wykonywanych przez wiele lat w celach diagnostycznych na zlecenie lekarzy. Zgoda pacjenta była udzielana lekarzowi kierującemu pacjenta na badania a nie badaczowi, który po

latach analizował znaczenie uzyskiwanych wyników. Niemniej, w tym retrospektywnym badaniu należało to opisać nie pozostawiając wątpliwości na temat statusu etycznego.

Wyniki

Bardzo silnym punktem rozprawy jest prezentacja wyników z profesjonalnym ich opracowaniem statystycznym. Początek tego rozdziału powinien jednak znaleźć się w rozdziale Materiał i metody. Chodzi o część oznaczoną 5.1.1 *Kryteria kwalifikacji pacjentów do analizy testu QuantiFeron-TB Gold Plus* opisującą rycinę 13 zatytułowaną *Metodyka wyboru grupy badanej 712 pacjentów*, która omawia działania przed uzyskaniem wyników. To samo dotyczy kolejnej części 5.1.1.1 *Charakterystyka epidemiologiczna 712 pacjentów, z podziałami na wiek i płeć*, która również powinna być w części opisującej materiał badawczy. W rozdziale *Wyniki* nie powinien także znaleźć się pierwszy akapit rozdziału 5.1.2.2, ani zdania z odnośnikami do piśmiennictwa (na str. 52 – 114, 173 i 17). Ta część powinna być wcześniej zlokalizowana przed prezentacją wyników.

Z analizy wyłączono 140 nieokreślonych wyników IGRA. Na ile nie powinny być one uwzględniane w ocenie wiarygodności testu, czułości i swoistości? Nie stanowiły one dużego odsetka z 3766 pacjentów (ok. 5%), a zatem ich wyłączenie nie wpływało znacząco na wyniki, ale obniża to wartość badanego testu, gdyż czasami nie można stwierdzić jaki był jego wynik. Wśród osób z ujemnym wynikiem IGRA w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę sprawdzono zaledwie 10% pacjentów. Nie opisano sposobu w jak dokonano wyboru tych pacjentów z ujemnym IGRA i czy wybór ten był losowy. Najlepszym rozwiązaniem byłoby sprawdzenie wszystkich w Rejestrze unikając przypadkowej antyselekcji.

W części 5.1.1 na str. 50 wkradły się dwa błędy liczbowe, co potwierdzają odmienne niż w tekście wyniki w tabeli 12. Zamieniono bowiem mężczyzn z chłopcami. Mężczyzn a

nie chłopców było 257/468, a chłopców było 119, ale na 244 badanych a nie jak błędnie zapisano na 24 osoby.

Pisząc o udziale dzieci w badaniu nie przedstawiono limitu wiekowego. Z opisu materiału nie wynika zatem czy chodziło o osoby do 14 czy 18 roku życia. Można to znaleźć w Aneksie na samym końcu rozprawy. Ponadto na jednej z rycin zapisano, że podział był do 18 i powyżej 18 roku życia, ale powinno to być precyzyjnie określone w części materiałowej.

W podsumowaniu wyników QuantiEERON-TB Gold Plus (str. 52) stwierdzono, że większość dzieci w analizowanej populacji pochodziła z domowego kontaktu z chorymi na gruźlicę. Nie napisano tego w metodyce i nie opisano z jakimi problemami trafili dorośli na badania IGRA, a ma to znaczenie w interpretacji wyników. Być może to selekcja osób biorących udział w badaniu, a nie wiek powodowała wyższy odsetek dodatnich wyników u dzieci.

Dlaczego w tabeli 12 rozpatrywano 333 wyniki skoro w prezentacji metodyki wyboru pacjentów do badania na rycinie 13 wyłączono 13 chorych zarejestrowanych w KRG przed wykonaniem IGRA? Również na rycinie 15 mowa jest o 333 chorych z dodatnim wynikiem IGRA a nie o 320. Czy zatem w tych 108 z nich, którzy się znaleźli się w KRG było 13 tych co było w nim przed wykonaniem testu ? Wpłynie to na odsetek chorych, u których doszło do aktywnej postaci i trzeba ustalić czy było to 108/320 czy 108/333. Wątpliwości budzi też drugie ramię na tej rycinie, gdzie wskazano 379 pacjentów z ujemnym wynikiem IGRA. Mamy zatem dwa odmienne zestawienia pacjentów składających się na materiał badawczy 712 osób. Na rycinie 13 przedstawiono ten materiał 712 pacjentów jako 320 + 392, podczas gdy w wynikach te 712 osób to 333 + 379. W rozkładzie materiału wkraśl się zatem błąd, ale różnice te nie wpłynęłyby na wskazane istotności, ale wymagają sprostowania.

Na str. 54 wprowadzono pojęcie *Relative Risk* – RR, co można było uczynić w części poświęconej metodom statystycznym, a w tym rozdziale pokazać tylko wyniki RR. Podobnie początek rozdziału 5.1.2.6.2 opisujący NPV i PPV powinien być zlokalizowany w części metodycznej, a nie w wynikach. W rozdziale 5.3.2 wprowadzono na wstępie pewne analizy statystyczne (LLOQ i ULOQ jak również korektę Holma-Bonferoniego), które powinny znaleźć się w rozdziale poświęconym metodom statystycznym. Podobnie w rozdziale 5.3.3.2 wprowadzono współczynnik pseudo-R² Nagelkerkego i dopasowanie Hosmera-Lemeshowa, które mogło się znaleźć w części opisowej metod statystycznych a w rozdziale *Wyniki* należało zaprezentować tylko rezultaty z użyciem tych testów.

W wynikach badanej populacji zwraca uwagę wysoki odsetek rozpoznanej w KRG pozapłucnej gruźlicy (15.2%), który jest kilkukrotnie wyższy niż w ogólnej populacji, ale przy niskim odsetku przypadków potwierdzonych mikrobiologicznie (21%). Potwierdzenie mikrobiologiczne w grupie aktywnej TB i z dodatnim IGRA sięgało tylko 32%. Czy zatem to wynik IGRA nie był podstawą rozpoznania aktywnej TB? Nie można wykluczyć, że test wykonywano u osób z prawdopodobną gruźlicą. Wymaga to głębszej dyskusji.

W interpretacji wyników ważny jest czas od dodatniego IGRA do zarejestrowania w KRG. Mamy bowiem kilka możliwości. Poza założeniem autorki, że LTBI mierzone IGRA+ statystycznie częściej prowadzi do rozwoju aktywnej gruźlicy możemy mieć dwie inne sytuacje: 1) dodatni wynik IGRA spowodował nieadekwatne do stanu faktycznego rozpoznanie aktywnej postaci gruźlicy i zarejestrowanie w KRG przypadku LTBI jako postaci aktywnej, co byłoby błędem lekarzy opiekujących się chorym, 2) dodatni wynik IGRA był w przebiegu aktywnej choroby i nie oznaczał LTBI. Chorzy na gruźlicę mieli w przeszłości stwierdzone dodatnie wyniki próby tuberkulinowej i nie świadczyło to o utajonym zakażeniu (niezależnie od tego czy byli szczepieni BCG). Wiemy, że dodatnie wyniki IGRA mogą być zarówno w

utajonej jak i aktywnej gruźlicy. A zatem test ten nie pozwala zróżnicować tych stanów. Kluczowa zatem jest rola klinicysty, który zestawia wynik z obrazem klinicznym, radiologicznym i wynikami innych badań a następnie podejmuje racjonalną decyzję. Pokazuje to jak trudno jest postawić granicę między utajonym a aktywnym zachorowaniem i niełatwo jest interpretować wyniki badań będących przedmiotem rozprawy. Warto przyrzeć się szczegółowo grupie chorych zarejestrowanych w KRG, z potwierdzeniem mikrobiologicznym jak i bez niego. Można również analizować czas między zgłoszeniem aktywnego zachorowania a wynikiem IGRA, co pozwoli lepiej interpretować wyniki i zdefiniować ich miejsce w diagnostyce TB. Klinicyści popełniają wiele błędów w tej dziedzinie, gdyż nie posiadają precyzyjnych wytycznych popartych dobrze udokumentowanymi wynikami badań. Warto pogłębić pewne wątki tego opracowania i zaprezentować w przyszłych publikacjach prezentujących te badania.

Wątpliwości budzi duży udział dzieci z dodatnim wynikiem IGRA zarejestrowanych w KRG (aż 60%). Czy nie mamy w tym przypadku z nad-diagnostyką lub anty-selekcją? W ogólnej populacji dzieci stanowią w Polsce zaledwie 1% wszystkich zachorowań na gruźlicę a w badanej populacji stanowiły większość. Potwierdzenie mikrobiologiczne w tej grupie było w zaledwie 16%, ale w ogólnej populacji jest niewiele lepiej. Z drugiej zaś strony, dzieci zarejestrowane w KRG miały wyższe stężenia INF γ , co z pewnością o czymś świadczy. Wymaga to ostrożności przy interpretacji wyników i pogłębionej dyskusji.

W tekście niekiedy zbyt szczegółowo opisywano uzyskane wartości liczbowe, które przedstawiono na rycinach lub w tabelach. Można było z tego zrezygnować odsyłając do danych w odpowiednich tabelach lub rycinach, podsumowując jedynie te wyniki w tekście. Było to bowiem niepotrzebnym powtarzaniem tych samych liczb w dwóch miejscach.

Brak złotego standardu w rozpoznaniu gruźlicy utajonej bardzo utrudnia interpretację wyników IGRA. Jak bowiem rozstrzygnąć wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne? Jak zmierzyć trafność diagnostyczną nie mając wiarygodnego punktu odniesienia? Czy wyniki nie wskazały na potrzebę zwiększenia poziomu odcięcia w testach chemiluminescencyjnych? To ważne pytania do omówienia w dyskusji.

Bardzo cenna jest weryfikacja trafności diagnostycznej wartości odcięcia wskazanych przez producenta i wykazanie, że w przypadku dzieci różnica jest zauważalna i wartość odcięcia 0,3 jest lepsza niż wskazana przez producenta 0,35, podczas gdy u dorosłych optymalną wartością okazało się 0,38. Wykazano znacznie wyższą trafność diagnostyczną testu u dzieci niż u dorosłych 26.3 vs 4.4. Wymagało to przedyskutowania a nie tylko pokazania.

Jak interpretować różnice w wynikach uzyskanych metodą immunoenzymatyczną i chemiluminescencyjną? Czy niezgodności te to fałszywie ujemne czy fałszywie dodatnie wyniki? Jakie wnioski płyną z tych różnic? Dodatnie wyniki choć częściej obserwowano w ocenie chemiluminescencyjnej to jednak były też w metodzie immunoenzymatycznej. Pokazuje to trudności w interpretacji wyników badań. Warto przedyskutować te ograniczenia i wskazać praktyczne wskazówki w interpretacji wyników, by uniknąć uproszczonych sądów i decyzji.

Czy wiadomo jak wypadło zestawienie dodatnich wyników w metodzie chemiluminescencyjnej z zestawieniem w KRG? Czy było więcej czy mniej aktywnych zachorowań przy większej liczbie LTBI stwierdzonych w tym teście? Z pewnością warto to sprawdzić i można łatwo poszerzyć wiedzę w tym temacie.

Różnice, nawet niewielkie, w wynikach IGRA przy różnych metodach oznaczenia mają istotne znaczenie dla klinicysty, gdyż ujemny wynik w jednym laboratorium może być dodatni w drugim stosującym inną metodę, a to ma istotne implikacje np. przy kwalifikacji do

leczenia biologicznego. Badanie potwierdziło pewne różnice zależnie od metody oznaczeń, co tłumaczy obserwowane już wcześniej odmienne wyniki IGRA pochodzące z różnych ośrodków. Badanie stwierdza, że choć zgodność metod jest duża to jednak nie stuprocentowa.

Ważne jest zaobserwowanie wyższych stężeń INF- γ w teście chemiluminescencyjnym i wskazanie na ryzyko nadrozpoznowalności LTBI w tej metodzie oraz wyznaczenie optymalnego poziomu odcięcia 0,63 zamiast proponowanego przez producenta 0,35. Wykazano wartości, przy której uzyskano optymalną zgodność obu testów. Dla klinicysty ważna jest pewność, że dodatni wynik oznacza dodatni a ujemny jest ujemny, niezależnie od użytej metody. Słusznie jednak doktorantka podkreśla, że *zgodność* nie oznacza *trafność diagnostyczną*. Stawia to przed badaczami kwestię znalezienia testów diagnostycznych różnicujących utajone i aktywne zachorowanie na gruźlicę. Nie wiemy bowiem czy obserwowane różnice to były fałszywie dodatnie czy fałszywie ujemne wyniki dla poszczególnych metod.

W odpowiedzi na pytanie jak odróżnić gruźlicę utajoną od aktywnej pomocna jest najbardziej oryginalna i wartościowa część rozprawy oceniająca, jakie biomarkery można wykorzystać w tym celu. Bardzo obiecujące jest odkrycie znaczenia pomiaru w surowicy chorych na gruźlicę IL-7 i INF- γ . Równie ważne jest wykazanie wyższych stężeń MIG/CXCL9 u chorych na aktywną TB przy ujemnych wynikach IGRA. Warto przedyskutować znacznie znamienne niższych stężeń badanych biomarkerów w stosunku do osób zdrowych w grupie chorych na aktywną gruźlicę. W stanach chorobowych może dochodzić nie tylko do wzrostu, ale też do spadku poszczególnych cytokin. Czasami spadkowi na obwodzie może towarzyszyć lokalny wzrost tych samych biomarkerów.

Zabrakło we wcześniejszych rozdziałach uzasadnienia wyboru konkretnych 20 biomarkerów badanych w jako wyznaczników aktywnego zachorowania. Część z nich jest

wymieniona we wstępie, ale inne być może znalazły się jako element zestawu użytego w badaniu. Dopiero w dyskusji uzupełniono ten brak i omówiono biomarkery, choć należałoby to umieścić we wstępie uzasadniając cel badawczy. Nie przedstawiono również jak rekrutowano 145 pacjentów, u których wykonano badania biomarkerów. Na ile był to losowy, a na ile świadomy wybór osób spełniających określone kryteria przydziału do jednej z trzech grup. Po podziale na 3 grupy badane populacje nie były liczne i uzyskane wyniki należy traktować jako wstępne, wymagające dalszej eksploracji potwierdzającej przydatność tych biomarkerów w różnicowaniu aktywnej postaci gruźlicy od utajonej. Badanie pozwoliło wyodrębnić obiecujące cytokiny do dalszych badań z udziałem większej grupy pacjentów.

Pisząc o 51 zdrowych pacjentach nie możemy mieć takiej pewności, bo nie podano kryteriów na jakich kwalifikowano do badania te osoby. Fakt, że mieli ujemny wynik IGRA i że nie znaleźli się w KRG nie świadczy, że byli zdrowi i nie mieli chorób ostrych lub przewlekłych, które mogły wpływać na stężenie badanych cytokin. Należy zatem albo sprecyzować, w jaki sposób stwierdzono, że była to zdrowa populacja, albo określać, że jedynie bez cech utajonej lub aktywnej gruźlicy.

Dyskusja

Trudnym zadaniem jest omówienie wyników tej pracy. Wynika to z wielu ograniczeń. Podstawowym jest brak wystarczającej jeszcze wiedzy o zagadnieniu, które było przedmiotem badania. Na ten element wskazała doktorantka wnikliwie przeglądając literaturę. Jest to solidna dyskusja oparta na faktach, jakie można znaleźć w literaturze naukowej. Doktorantka bardzo starannie przeanalizowała problem i pokazała zarówno podobne jak i odmienne wyniki. Z uznaniem należy wskazać inne niż we wstępie artykuły zacytowane dla porównania wyników własnych z wcześniejszymi badaniami.

Dyskusja, podobnie jak prezentacja wyników, jest ustrukturyzowana i podzielona na 3 części dotyczące trzech odmiennych celów i modeli badawczych – czyli przydatność testu QuantiFERON-TB Gold Plus w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy, porównanie 2 testów oceniających uwalnianie INF- γ metodą immunoenzymatyczną i chemiluminescencyjną oraz poszukiwanie nowych biomarkerów różnicujących utajoną i aktywną gruźlicę.

Zdecydowanie najslabiej omówione zostały wyniki w pierwszej części, mimo że prześladowana została literatura i porównano wynik z wcześniejszymi badaniami. Brakuje w niej jednak krytycznego i pogłębionego spojrzenia na pewne braki wynikające z metodyki. Nie można bowiem odnosić tych wyników do całej populacji, gdyż nie była to grupa losowo wybrana i były to osoby skierowane na badanie z bardzo różnym problemami. Były to dzieci z kontaktu z chorym na gruźlicę i osoby które skierowano na badanie z powodu planowanego leczenia biologicznego. Były zapewne też osoby, u których w badaniu radiologicznym znaleziono zmiany w płucach stąd skierowano je na badanie IGRA, ale może też tacy, którzy mieli objawy kliniczne lub radiologiczne sugerujące gruźlicę i dlatego wykonano ten test. Nie wiadomo na ile chorowali oni na inne choroby przewlekłe, jak byli leczeni, jaki był ich status immunologiczny. Czy były wśród nich osoby zakażone HIV, dializowane, stosujące leki immunosupresyjne? Czy były osoby niedożywione, wyniszczone, z chorobami nowotworowymi, alkoholicy, palacze papierosów czy chorzy na cukrzycę? To wielkie zróżnicowanie pacjentów badanych przy nieokreślonym statusie immunologicznym w tej części stanowi istotne ograniczenie przy interpretacji wyników. Selekcja osób badanych mogła bowiem zadecydować o wynikach. Brakuje omówienia ograniczeń badania w dyskusji.

Dobrym na to przykładem jest wiek i wniosek, że IGRA są częściej dodatnie u dzieci. Być może u dzieci badanie wykonywano głównie z powodu stwierdzenia gruźlicy płuc u domowników, co tłumaczy duży odsetek dodatnich wyników IGRA, bo w rzeczywistości byli

oni eksponowani na prątki przez bliski kontakt z chorymi i ich układ immunologiczny na to zareagował. Drugą grupą, u której wykonano test mogły być osoby z objawami klinicznymi lub radiologicznymi i dodatni wyniki IGRA stał się podstawą rozpoznania gruźlicy. Świadczy za tym znacznie większy odsetek dzieci niż dorosłych, u których później rozpoznano aktywną gruźlicę. U dzieci nie wykonywano często badań przed leczeniem biologicznym lub dla wyjaśnienia przypadkowo wykrytych zmian radiologicznych. Należało w dyskusji wskazać na udział selekcji, która preferowała dzieci o wysokim ryzyku zakażenia lub zachorowania na gruźlicę, podczas gdy u osób dorosłych znacznie mniejszy był udział osób badanych z realnym zakażeniem prątkiem gruźlicy.

Oczywiście nie można przekreślać udziału wieku, ale należałoby się dokładniej przyjrzeć wynikom. Można było podzielić dzieci na 3 grupy wiekowe np. do szóstego, dwunastego i osiemnastego roku życia, a następnie ocenić wyniki IGRA. Układ immunologiczny dziecka do 6 roku życia jest niedojrzały, a zatem można oczekiwać różnic w odpowiedzi na prątek w tych grupach wiekowych. Układ immunologiczny starzeje się i ciekawe jest pytanie jak wpływa to na wyniki w badanym teście immunologicznym. Można zatem podzielić dorosłych na podgrupę w podeszłym wieku i osoby młode a następnie sprawdzić jak wpłynęło to na wyniki IGRA. Oczywiście wymaga to badania większej grupy pacjentów, ale już teraz można było spojrzeć na rozkład wyników INF- γ w całej populacji na osi X w zestawieniu do wieku na osi Y. Dałoby to większy pogląd na sugerowany udział wieku na wyniki badań.

Wiek z pewnością może wpływać na wyniki oparte na odpowiedzi immunologicznej, szczególnie że nakładać się mogą pewne inne czynniki związane z chorobami, lekami itp. Należało w dyskusji wspomnieć o tych aspektach, bo nie wystarczy pokazać, że inni autorzy również obserwowali różnice związane z wiekiem. Warto stawiać hipotezy jakie są przyczyny obserwowanych różnic i jakie badania mogłyby to wyjaśnić. Walorem wyników prowadzo-

nych badań jest to, że wskazują one nowe kierunki badawcze, a tak jest w tej rozprawie i warto było na to wskazać w dyskusji.

Podobnie jest ze sprawą częstszych dodatnich wyników IGRA u kobiet, ale znacznie trudniej wyjaśnić dlaczego. Doktorantka prześledziła literaturę, która wskazała zarówno na przewagę LTBI u mężczyzn lub kobiet albo na brak różnic. Pokazała zatem, że wyniki wpisują się we wcześniejsze obserwacje. To jednak trochę mało i warto w dyskusji zastanowić się czym spowodowane są obserwowane różnice w wynikach zależne od płci, a nie tylko zadowolić się takim spostrzeżeniem. Co ciekawe, w Polsce mężczyźni chorują na gruźlicę znacznie częściej niż kobiety. Dlaczego zatem LTBI miałyby być częstsze u kobiet skoro jest to stan predysponujący do zachorowania i poprzedzający aktywne zachorowanie? Z kolei w innych regionach np. w krajach afrykańskich nie obserwuje się różnic związanych z płcią w zapadalności na gruźlicę. Istnieją zatem prawdopodobnie lokalne czynniki ryzyka, które powodują, że mężczyźni lub kobiety częściej chorują. A może kobiety mogą lepiej kontrolować zakażenie prątkiem gruźlicy i utrzymywać po zakażeniu prątkiem stan utajony a u mężczyzn częściej dochodzi do jego aktywacji? Stąd może częściej wykryto LTBI u kobiet? Co więcej, w nieopublikowanych jeszcze wynikach badań nad gruźlicą w Polsce u osób w wieku powyżej 75 roku życia (średnia 82 lata) stwierdzono przewagę kobiet nad mężczyznami (4:1). Może na starość ta kontrola zakażenia u kobiet ulega osłabieniu? Wymaga wyjaśnienia dlaczego tak się dzieje, a wyniki wskazujące na związki LTBI z wiekiem i płcią wskazują, że te czynniki wiążą się z gruźlicą, ale nadal tak wiele jest jeszcze niedostatków wiedzy w tym zakresie. Można było w dyskusji głębiej zmierzyć się z tym paradoksem i zastanowić się nad przyczynami tych wyników. Warto postawić hipotezy badawcze, które można w przyszłości potwierdzać w dalszych badaniach wyjaśniających te różnice. To trudne zadanie i nie znajdziemy odpowiedzi na to w literaturze. Trzeba wymyślić dlaczego tak się dzieje i jak to wyjaśnić.

Pierwsze dwa akapity dyskusji zawierają treści ogólne, które mogłyby być we wstępie. Pisząc o krajach, które ostatnio zrezygnowały ze szczepień nie wspomniano, że wiele krajów od dawna już nie szczepiło szczepionką BCG i ich lista jest dłuższa niż przedstawiono. Omawiając rozbieżne w literaturze wyniki dotyczące zależności między częstością LTBI w różnych populacjach a płcią nie porównywano jak liczne były to próby i jak rekrutowani byli do badań uczestnicy. Nie oceniono zatem wiarygodności wyników tych doniesień, na które się powołano i nie określono na ile były dokładniejsze lepsze od tych w rozprawie. Sugerując, że różnice wynikają z częstszego wykonywania badań profilaktycznych u kobiet należałoby ocenić czy w badanej grupie ten czynnik można brać pod uwagę. Nie wspomniano, że leczenie biologiczne najczęściej stosowane jest w Polsce w reumatologii, a RZS występuje 2-3 razy częściej u kobiet, a zatem częściej kobiety były kierowane z tego powodu na IGRA. Pisząc o częstszym występowaniu LTBI u kobiet nie wspomniano o selekcji osób do badań, co mogło być powodem dodatnich wyników. Na ile były to jednorodnie wybrane grupy mężczyzn i kobiet a kryteria kwalifikacji do badań były w poszczególnych populacjach takie same? Należy krytycznie odnosić się do wyników z literatury, oceniając jakość tych doniesień i wiarygodność wyników. Sprawie płci i różnic z nią związanych można było poświęcić więcej uwagi w dyskusji, bo to ciekawy aspekt i warto było analizować czynniki hormonalne, immunologiczne oraz zewnętrzne mogące potencjalnie wpłynąć na wyniki.

Niezwykłe cennym było zestawienie pacjentów z dodatnim wynikiem IGRA z KRG. To bardzo oryginalne spojrzenie sugerujące potrzebę rejestracji i obserwacji w czasie chorych z utajoną gruźlicą. Warto obserwować na ile u osób z dodatnim wynikiem IGRA i w jakim czasie dochodzi do aktywnej gruźlicy. W badanej grupie było to niezwykle częste i można rzec nadmiernie częste. Należało zwrócić na to większą uwagę w dyskusji i przeanalizować potencjalne przyczyny. Skoro w ogólnej populacji dochodzi do aktywacji zakażenia prątkiem

u 5-10% w ciągu całego życia to czym można wyjaśnić, że w badanej populacji odsetek ten sięgał 32%. Nie była to populacja zakażonych HIV, osób leczonych biologicznie bez chemio-profilaktyki, dializowanych, wyniszczonych chorych z pylicą czy nowotworami. Doktorantka nie odważyła się wskazać na błędy ludzkie w postaci nad-diagnostyki gruźlicy czy niewłaściwej kwalifikacji chorych do testów na utajoną gruźlicę. IGRA nie są zalecane w diagnostyce aktywnej gruźlicy, a jedynie dla identyfikacji utajonej postaci. Błędem mogło być rozpoznanie aktywnej gruźlicy na podstawie dodatniego wyniku IGRA. Nie ulega wątpliwości, że te przyczyny miały miejsce, bo odsetek osób z uaktywnieniem LTBI był zbyt duży. Oczywiście doktorantka przedstawiła fakty i nie ma dowodów na popełniane przez lekarzy błędy. Niemniej potrzebny jest krytycyzm w ocenie wyników, a w tym przypadku nasuwa się krytyczna ocena profesjonalizmu lekarzy, jako jedna z przyczyn zaskakujących wyników.

Omawiając gruźlicę u dzieci zacytowano tylko polskie artykuły (105, 209, 214) a sytuacja w Polsce w zakresie zapadalności na gruźlicę u dzieci jest odmienna od światowych i europejskich danych, gdyż mamy jeden z najniższych odsetków zachorowań na gruźlicę w tej populacji. Warto zatem sięgnąć po prace z krajów, w których epidemiologia zachorowań na gruźlicę u dzieci jest odmienna. Zwraca uwagę bardzo duży odsetek zachorowań na aktywną gruźlicę u dzieci z dodatnim wynikiem IGRA – stanowili oni aż 59%. To bardzo podejrzane i sugeruje, że wynik dodatni IGRA był podstawą, nie wiadomo czy uzasadnioną, rozpoznania gruźlicy. Wymaga to pogłębionej analizy przyczyn takiego zjawiska i błędy lekarskie są potencjalną możliwością, o której jednak w ogóle nie wspomniano w dyskusji. Rozumiem czym mogło by to być spowodowane, niemniej trzeba o tym mówić i kontynuować badania wyjaśniające przyczynę takich wyników, bo być może uzyskane wyniki wskazują na potrzebę zmian w kształceniu lekarzy i w nadzorze specjalistycznym ich pracy, a byłby to ważny

wniosek płynący z tych badań, który nasuwa się z analizy tych danych, choć doktorantka nie odważyła się postawić tej tezy.

Pisząc o danych pochodzących z innych regionów świata warto dodać komentarz, że nie można bezkrytycznie przenosić wyników z krajów afrykańskich czy azjatyckich do Polski, gdyż, szczególnie w przypadku zakażeń, obserwuje się odmienne przebiegi choroby, odmienne oporności, wrażliwości na leki, różne są czynniki ryzyka, reakcje na leki itp. Trudno się zgodzić z opinią doktorantki, że odsetek pozapłucnej gruźlicy 3,9% w ogólnej populacji i 16% w badanej grupie to zbliżone wyniki, gdyż w badanej populacji pozapłucną lokalizację stwierdzano cztery razy częściej niż w ogólnej. Bardzo ciekawa jest natomiast obserwacja, że stężenie INF- γ u dzieci z rozpoznaną gruźlicą były znacznie wyższe niż u dorosłych z rozpoznaną gruźlicą. Na ile można to tłumaczyć niedawnym zakażeniem prątkiem gruźlicy, jak to sugeruje doktorantka, za greckimi badaczami? Inni autorzy obserwowali intensywną odpowiedź limfocytów T i wysoką produkcję INF- γ u dzieci, ale czy naprawdę to wynik niedojrzałości układu immunologicznego? Problem wymaga dalszych badań, bo nie wydaje się, że jest to takie oczywiste i jasne. Powstaje pytanie czy to dobrze, że mamy do czynienia z taką reakcją i czy wysokie stężenie INF- γ produkowanego pod wpływem stymulacji antygenami prątka oznacza dobre rokowanie? Trzeba stawiać takie pytania i starać odpowiedzieć sobie na pytanie, jakie znaczenie rokownicze ma ta obserwacja u dzieci.

Badania potwierdziły przydatność IGRA w różnicowaniu osób zakażonych i niezakażonych prątkiem gruźlicy. Mało jednak mowy jest w dyskusji na ile wyniki IGRA pomagają w rozpoznawaniu aktywnej gruźlicy. W dyskusji nie omówiono przyczyn bardzo dużej różnicy w skuteczności testu u dzieci i dorosłych (DOR 26,3 vs 5,4). Warto wskazać czym jest to spowodowane.

W omówieniu miejscami niepotrzebne doktorantka ponownie przytacza wyniki. Celem dyskusji nie jest powtarzanie wyników, lecz omówienie ich na tle wcześniejszych badań lub wyjaśnianie przyczyn tych rezultatów.

Wnioski

Na koniec doktorantka sformułowała siedem wniosków, które są wyważone i odpowiadają uzyskanym wynikom. Nawiązują one do stawianych celów badawczych. Mają one charakter analityczny, odzwierciedlający wyniki. Można było jednak je formułować bardziej syntetycznie odpowiednio do pytań postawionych w celu badania. Wątpliwości budzi możliwe, ale nie jedyne wyjaśnienie wyników zawartych we wnioskach 1 i 2. Nie są wykluczone też odmienne wyjaśnienia przyczyn takich wyników, dotyczące selekcji osób rekrutowanych do badań i błędnych decyzji lekarskich niezgodnych z aktualną wiedzą medyczną.

Publikacje autorki, prezentacje wyników związanych z pracą

Po wnioskach przedstawiony został dorobek doktorantki, zarówno publikacje jak i prezentacje ustne wyników związanych z tematem rozprawy. Wskazuje on na piętnastoletnie już doświadczenie autorki w dziedzinie diagnostyki utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Różnorodne aspekty tego zagadnienia zaprezentowała na 47 polskich i zagranicznych kongresach lub konferencjach z udziałem lekarzy, specjalistów chorób płuc, mikrobiologów, epidemiologów i diagnostów laboratoryjnych. Równie imponująca jest lista 17 publikacji w języku polskim i angielskim, w których 9 raz doktorantka jest pierwszym autorem. O ich poziomie wymownie świadczy fakt, że wskaźnik oddziaływania pism, w których je opublikowano przekraczał 16 pkt. i ponad 450 pkt. MNiSzW. Świadczy to o przygotowaniu naukowym autorki, dla której rozprawa jest zwieńczeniem wieloletniej pracy i doświadczeń. Zastrzeżenie budzi jedynie lokalizacja tej części przed piśmiennictwem, streszczeniem i spisem rycin i

tabel, gdyż trudno uznać ją za immanentną część tej rozprawy i proponowałbym ją umieścić w dalszej części rozprawy już po piśmiennictwie lub na samym początku przed wstępem.

Streszczenie

Na końcu dysertacji znajduje się dobrze napisane i klasycznie ustrukturyzowane streszczenie. Jest ono zwarte i oszczędne w słowa znakomicie podsumowuje całość. Zaskoczeniem jest tylko jego lokalizacja, po zestawie publikacji autorki a przed spisem tabel i przed piśmiennictwem. Streszczenie zwykle rozpoczyna lub kończy rozprawę, a zatem nie jest to typowa lokalizacja tej części.

Cel badania w streszczeniu nie został sformułowany w sposób jednoznaczny, choć jest to przecież osią rozprawy. Oczywiście autorka ujęła to w formę opisową, że w pracy skoncentrowano się na ocenie pewnych wyników badań, przedstawiając cel pośrednio. Wątpliwości budzi także wprowadzanie w streszczeniu skrótów np. TST, TBST, WHO, które nie były później wykorzystywane, a są wyjaśnione zarówno w spisie skrótów jak i wcześniej w tekście rozprawy. Miałoby to znaczenie w artykułach, w których rozpoczynają tekst i są często jedynym powszechnie dostępnym fragmentem artykułu, ale w tym przypadku nie było to konieczne. Nie ma sensu wprowadzać skrótów, które nie są w dalszej części wykorzystywane a tym bardziej wyjaśnianie ich znaczenia w trzech miejscach.

Wnioski podsumowujące streszczenie są całkowicie odmienne od wniosków na końcu rozprawy. Są one bardzo ogólnie napisane z perspektyw zdrowia publicznego i wnoszą wiele niezwykle ciekawych aspektów, o których można było napisać w dyskusji. Trudno się zgodzić z określeniem, że wyniki przyczynią się one do realizacji celów globalnej strategii WHO na rok 2035. Podkreślono znaczenie identyfikacji pacjentów wymagających profilaktycznego leczenia, ale zbyt mało temu problemowi poświęcono miejsca w rozprawie, zwłaszcza w dyskusji wyników. Rozpoznanie LTBI służy do identyfikacji chorych

wymagających leczenia profilaktycznego a rozpoznanie aktywnej gruźlicy jest wskazaniem do zastosowania pełnego leczenia przeciwprątkowego. Nie odniesiono się we wnioskach do realizacji celów badania. Ten bardzo ciekawy fragment streszczenia można było rozbudować w dyskusji a zakończyć streszczenie wnioskami z rozprawy.

Streszczenie w języku angielskim

Angielska wersja streszczenia jest dobrze napisana po angielsku i wiernie oddaje polską wersję. Z tego względu uwagi dotyczące polskiej wersji dotyczą również angielskiej, ale są pewne wyjątki. Jednoznacznie napisano w angielskim streszczeniu, że celem badania była ocena określonych testów diagnostycznych i identyfikacja biomarkerów różnicujących LTBI od aktywnej TB. Ujęcie celu wypadło lepiej w wersji angielskiej niż po polsku.

Spis tabel

Po streszczeniu w języku angielskim umieszczono spis 34 tabel. Można było rozważyć wskazanie stron, na których się one znajdują w tekście rozprawy. Dyskusyjna jest jego lokalizacja po abstrakcie a przed piśmiennictwem. Zwykle umieszcza się go na początku rozprawy przed wstępem lub na końcu po piśmiennictwie.

Spis Rycin

Po spisie tabel znajduje się zestawienie 22 rycin. W tym przypadku można było także wskazać na jakich stronach się znajdują i zlokalizować na początku albo na końcu rozprawy.

Piśmiennictwo

Piśmiennictwo należy do silnych stron rozprawy. Doktorantka wykazała się głęboką znajomością tematu, cytując w pracy blisko 300 pozycji. Literatura pochodzi z ostatnich lat, a poszczególne pozycje są adekwatnie cytowane dla omawianych zagadnień. Doktorantka zwy-

kle sięga po oryginalne opracowania i unika prac poglądowych omawiających dane zagadnienie. Wyważona jest proporcja 150 pozycji we wstępie i 130 w pozostałych częściach. Zestawienie opracowano z niespotykaną wręcz starannością, konsekwentnie przestrzegając jednolitego stylu zapisu poszczególnych pozycji. Nieliczne drobne uwagi dotyczące niedociągnięć redakcyjnych w tej części przedstawiono w Aneksie.

Aneks

W aneksie przedstawiono dane dotyczące 712 pacjentów, u których wykonano IGRA. Najciekawsze dane, które niestety nie były analizowane, to rok rozpoznania LTBI i zarejestrowania w KRG. Wynika z tego zestawienia, że było to w tym samym roku lub kolejnym, co w praktyce może oznaczać zbliżony odstęp w miesiącach. Druga tabela porównała wyniki indywidualne w dwóch testach IGRA. Jest to bardzo przejrzyste porównanie tych metod. Niewiele jest jednak informacji o pacjentach z wyjątkiem wieku i płci. W trzecim zestawieniu przedstawiono indywidualne wyniki 20 cytokin u 145 pacjentów. Ograniczenia wielkości strony spowodowało, że liczby zostały przedstawione w pionie czasem w kilku rzędach co bardzo utrudnia zapoznanie się z tymi wynikami. Ponadto przedstawiono wiek, płeć i TBmax. Pewnym powtórzeniem jest dodatkowa kategoria wiekowa, która wynika z podanej liczby (do 18 dziecko powyżej 18 dorosły). Podobnie jest z wynikiem IGRA - dodatni lub ujemny zależnie od podanej wartości TBmax (poniżej lub powyżej 0,35). Rozpoznanie to wynikające z interpretacji wyniku zakwalifikowani do zdrowych lub LTBI. Pozostałe rubryki to Lp i numer pacjenta niewiele wnoszą informacji. Zakres informacji innych niż uzyskane wyniki cytokin jest bardzo ograniczony i niewiele wiemy o badanych osobach.

Podsumowanie

Wszelkie uwagi, postawione pytania lub komentarze w najmniejszym stopniu nie dyskredytują tej rozprawy, która wnosi wiele oryginalnych i ważnych informacji, we wciąż niepoznanym dogłębnie zagadnieniu, jakim jest gruźlica utajona. Rozprawa ukazała wartość nowoczesnych testów immunologicznych w diagnostyce tej postaci choroby. Praca wskazała również na nowe biomarkery pomocne w różnicowaniu utajonej i aktywnej gruźlicy.

W podsumowaniu oceny rozprawy Dagmary Borkowskiej-Tatar trzeba podkreślić, że stanowi ona oryginalny dorobek naukowy doktorantki, jest dowodem jej dużej dojrzałości naukowej, umiejętności zaplanowania i zrealizowania projektu badawczego. Wykazała się również rozległą i nowoczesną wiedzą na temat różnorodnych aspektów gruźlicy. Świadczy także o jej zdolności do samodzielnego myślenia, logicznego wnioskowania i krytycznej interpretacji wyników badań na tle właściwie wykorzystanego piśmiennictwa naukowego.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Dagmary Borkowskiej-Tatar zatytułowana *Ewaluacja testu QuantiFeron TB-Gold Plus w diagnozowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i poszukiwanie nowych alternatywnych biomarkerów* spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dlatego przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc wniosek o dopuszczenie Dagmary Borkowskiej-Tatar do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Tadeusz M Zielonka

